



Ресурсный потенциал некоторых видов рода *Miscanthus* Anderss. в условиях континентального климата лесостепи Западной Сибири

О.В. Дорогина¹✉, О.Ю. Васильева¹, Н.С. Нуждина¹, Л.В. Буглова¹, Ю.А. Гисматулина², Е.В. Жмудь¹, Г.А. Зуева¹,
О.В. Комина¹, Е.А. Цыбченко³

¹ Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, Бийск, Россия

³ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время весьма актуальны задачи по поиску альтернативных древесине источников энергии, экологически безопасных и экономически доступных. В связи с этим особый интерес представляют виды травянистых растений с высокой скоростью роста и характеризующиеся высокими значениями нарастания надземной вегетативной массы, имеющие практическое применение в качестве источника биоэтанола. Примером может служить род *Miscanthus* Anderss. (веерник), включающий примерно 14–20 видов, в том числе *M. sacchariflorus* (Maxim.) Hack., *M. sinensis* Anderss. и *M. purpurascens* Anderss., а также *M. × giganteus*, которые являются практически неисчерпаемыми источниками возобновляемого сырья в области альтернативной энергетики. В Центральном сибирском ботаническом саду (ЦСБС) СО РАН (Новосибирск) на основе коллекции газонных и декоративных злаков в конце 1990-х гг. было начато формирование и изучение родового комплекса *Miscanthus* Anderss. Целью этого исследования стало изучение биологических особенностей видов *Miscanthus*: *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* и *M. purpurascens*, интродуцированных в ЦСБС, отбор и генетическая идентификация перспективных форм в качестве технических сырьевых растений. Для оценки ресурсного потенциала и перспективы селекционной работы с родовым комплексом *Miscanthus* с целью хозяйственного использования в качестве технической (биоэнергетической) культуры в условиях лесостепи Западной Сибири были изучены сезонные ритмы развития модельных видов в условиях континентального климата в сравнении с муссонным и умеренно континентальным; охарактеризованы биоморфы, образующиеся *ex situ* и *in situ*; определен химический состав растительного сырья и проведена идентификация по молекулярно-генетическим маркерам трех видов *Miscanthus*, интродуцированных в ЦСБС СО РАН. Анализ сезонного развития трех отборных форм веерников (*M. sacchariflorus*, *M. purpurascens* и *M. sinensis*) показал, что гидротермические условия благоприятствовали получению вегетативной массы растительного сырья, т.е. использованию в качестве технической культуры в условиях лесостепи Западной Сибири. Выявлены формы для дальнейшей селекции и молекулярные признаки для разных видов мискантуса, которые можно использовать для идентификации и паспортизации форм и линий, перспективных для получения экономически доступного растительного сырья – альтернативных источников целлюлозы недревесного происхождения.

Ключевые слова: род *Miscanthus*; биоэнергетика; фенология; биоморфология; репродуктивная биология; химический состав; секвенирование; локус ITS, trnL-F.

Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anderss. under conditions of continental climate of West Siberian forest-steppe

O.V. Dorogina¹✉, O.Yu. Vasilyeva¹, N.S. Nuzhdina¹,
L.V. Buglova¹, Yu.A. Gismatulina², E.V. Zhmud¹,
G.A. Zueva¹, O.V. Komina¹, E.A. Tsybchenko³

¹ Central Siberian Botanical Garden, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies, SB RAS, Biysk, Russia

³ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

In the meantime, search for environmentally friendly renewable energy sources alternative to fossil fuel has been driven by energy security challenges including limited availability of fuel and energy price fluctuations. Therefore herbal perennial grasses with their rapid growth and prominent biomass yield increasingly make it a favorite choice as a valuable agricultural crop usable for cellulosic ethanol production. As an example, the genus *Miscanthus* Anderss. (silvergrass) comprises ca. 14–20 species including *M. sacchariflorus* (Maxim.) Hack., *M. sinensis* Anderss., *M. purpurascens* Anderss. and *M. × giganteus*, which appear to be an almost inexhaustible source of sustainable raw material, and several *Miscanthus* species were investigated as a potential biofuel energy crop with commercially viable way of its producing. Introduction and investigation of *Miscanthus* species were initiated in the Central Siberian Botanical Garden of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (CSBG SB RAS, Novosibirsk, Russia) based on the grass and ornamental plant collection in the late 1990s. The paper objective is studying the biological traits of three *Miscanthus* species introduced into the CSBG SB RAS, selection and genetic identification of cultivars and varieties as the most perspective agricultural crop. To evaluate the potential crop yield and selection prospects of *Miscanthus* species being competitive as a valuable biofuel energy crop, the authors have estimated seasonal rhythms of model species development in the continental climate conditions of West Siberia. The article characterizes different *Miscanthus* varieties obtained either by the *ex situ* or *in situ* methods; presents the biochemical analysis of plant material and molecular identification of three *Miscanthus* species introduced into the CSBG SB RAS. The seasonal development analysis of three selected varieties of *Miscanthus* (*M. sacchariflorus*, *M. sinensis*, and *M. purpurascens*) proved the hydrometeorological conditions to be advantageous for prominent biomass yield, e. g. contribu-

tory to use *Miscanthus* in West Siberia as an easy to grow cellulose-rich grass. Molecular markers applicable in DNA-identification and genetic passportization of *Miscanthus* varieties have been established, which are perspective as such an economically available plant material as alternative non-woody source of cellulose.

Key words: *Miscanthus*; bioenergy; phenology; biomorphology; reproductive biology; chemical composition; DNA sequencing; ITS locus; *trnL*-F intron.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Дорогина О.В., Васильева О.Ю., Нуждина Н.С., Буглова Л.В., Гисматулина Ю.А., Жмудь Е.В., Зуева Г.А., Комина О.В., Цыбченко Е.А. Ресурсный потенциал некоторых видов рода *Miscanthus* Anderss. в условиях континентального климата лесостепи Западной Сибири. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):553-559. DOI 10.18699/VJ18.394

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Dorogina O.V., Vasilyeva O.Yu., Nuzhdina N.S., Buglova L.V., Gismatulina Yu.A., Zhmud E.V., Zueva G.A., Komina O.V., Tsybchenko E.A. Resource potential of some species of the genus *Miscanthus* Anderss. under conditions of continental climate of West Siberian forest-steppe. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):553-559. DOI 10.18699/VJ18.394

Согласно данным отечественных и зарубежных ученых, только 5 % видов сосудистых растений мировой флоры изучено с точки зрения их полезности для человечества (Ревин, 2000). Введение в культуру пищевых, технических и декоративных растений из местной и инорайонной флоры позволяет уменьшить нагрузку на ресурсные виды в природных местообитаниях. Комплексный подход к решению этих проблем состоит в исследовании биологических особенностей и экологических характеристик видов *in situ* и *ex situ*, что неоднократно обсуждалось на Международных конгрессах ботанических садов (Испания, 2004 г., Польша, 2007 г., Ирландия, 2010 г., Китай, 2012 г.).

Особую группу объектов представляют виды, обладающие в природе высоким полиморфизмом и одновременно имеющие широкий спектр практического применения в различных хозяйственных областях. Уникальный пример подобных объектов – это родовой комплекс *Miscanthus* Anderss. (веерник) и входящие в него *M. sacchariflorus* (Maxim.) Hack., *M. sinensis* Anderss. и *M. purpurascens* Anderss., первоначально известные в качестве декоративных злаков. Однако за последние два десятилетия данные виды, а также *M. × giganteus* вошли в число растительных объектов, являющихся практически неисчерпаемыми источниками возобновляемого сырья для получения целлюлозы, которая, в свою очередь, служит базовым продуктом для многих разработок в области альтернативной энергетики (Слынько и др., 2013).

В Центральном сибирском ботаническом саду (ЦСБС) СО РАН коллекция газонных и декоративных злаков является частью биоресурсной научной «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» USU 440534. Формирование коллекции живых растений и изучение родового комплекса *Miscanthus* было начато в конце 1990-х гг. преимущественно за счет получения клонированного материала из других ботанических садов.

С 2003 г. расширение коллекции осуществляется за счет сборов веерников в естественных местообитаниях на российском Дальнем Востоке. Наиболее значительные пополнения произошли в 2013 (п-ов Гамова, Приморский край) и 2017 гг. (Чугуевский и Хасанский районы Приморского края, о-ва Курильской гряды – Шикотан, Кунашир, Итуруп, а также Камчатская область). Так как конечной целью исследования был отбор перспективного

растительного сырья – ценного альтернативного биотопливного материала, то появилась необходимость в изучении генетического полиморфизма и проведении ДНК-маркирования этих видов мискантуса.

Мискантус относится к числу наиболее эффективных аккумуляторов солнечной энергии на планете (Dohleman, Long, 2009). Согласно исследованиям физиологов, виды мискантусов обладают высочайшей потенциальной продуктивностью. Получение до 40 тонн сухой биомассы с гектара связывают с характерным для всех представителей данного рода C_4 -типом фотосинтеза. В отличие от большинства традиционно культивируемых C_4 -растений, таких как сахарный тростник и кукуруза, мискантусы способны поддерживать высокую интенсивность фотосинтеза даже в условиях сравнительно пониженных температур (Naidu et al., 2003; Анисимов и др., 2016). Этим объясняется высокая продуктивность веерников, выращиваемых в более суровых, чем естественные, климатических условиях.

Перспективность выращивания мискантуса в условиях лесостепного Приобья может быть обусловлена еще и тем, что, по мнению ряда ученых, из-за повышенных требований к энергии C_4 -фотосинтез неэффективен в условиях низкой освещенности. В районах естественного произрастания мискантусов (Владивосток) среднегодовое количество часов солнечного сияния составляет 2 140, в Новосибирске – 2 077, что значительно выше, чем в Москве (1 731) и приближается к показателям Краснодара (2 110) и Ялты (2 185).

Целью настоящего исследования было изучение биологических особенностей видов *Miscanthus*: *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* и *M. purpurascens*, интродуцированных в ЦСБС, отбор и генетическая идентификация перспективных форм в качестве технических сырьевых растений.

Материалы и методы

В качестве модельных выбраны три вида веерника, изучение эколого-биологических особенностей которых проводится в ЦСБС с 2012 г. Особи, интродуцированные в ЦСБС, были отобраны с территории российского Дальнего Востока. Таксономические признаки даны по Ворошилову (1982).

M. sacchariflorus. Нижняя цветковая чешуя с короткой, не выдающейся из хохолка каллуса прямой остью. Волоски хохолка белые, редко красноватые. Корневище с тон-

кими ползучими побегами. Произрастает на территории РФ в Приморье, на Западном и Южном Амуре.

M. sinensis. Ветви соцветия ветвистые; оба колоска сидят на некотором удалении от осей веточек. Колосковые чешуи помимо короткой шероховатости несут длинные волоски. Хохолки каллуса нижней цветковой чешуей скорее негустые, после цветения сильно оттопыренные, грязно-белые, но нередко бывают красноватыми. Ость нижней цветковой чешуи значительно выдается из хохолка, хорошо заметная, коленчато согнутая. Корневище укороченное, толстое. Встречается на Курильских о-вах и на о. Сахалин.

M. purpurascens. Ветви соцветия неветвистые; сидячий колосок расположен непосредственно на оси веточки. Колосковые чешуи только короткошероховатые. Хохолки после цветения нередко не столь оттопыренные, часто более густые, красноватые. Корневище длинное, горизонтальное. Вид обитает в Приморье. Указания для Сахалина и Курильских о-вов, по-видимому, ошибочные.

Ритмы роста и развития всерников изучались с использованием методики фенологических наблюдений в ботанических садах СССР (Методика..., 1975), модифицированной и дополненной в процессе исследований Г.А. Зуевой в соответствии с особенностями объектов. Гидротермические характеристики периодов вегетации и покоя вычислены на основании данных Новосибирского государственного аграрного университета и метеостанции «Огурцово», а также с привлечением данных климатического мониторинга (<http://www.pogodaiklimat.ru/>).

Биоморфологические исследования проводили, основываясь на характеристиках жизненных форм всерников, предельных А.Б. и Т.А. Безделевыми (Безделев, Безделева, 2006) для *M. sacchariflorus* и *M. sinensis*. Характеристика жизненной формы *M. purpurascens* в этой биоморфологической сводке не приведена. Для морфометрических параметров указаны средние значения (\bar{X}), их ошибка (s_x) и коэффициент вариации (V , %).

Определение химического состава выполнено в лаборатории биоконверсии Института проблем химико-энергетических технологий СО РАН для растительных образцов (листья), собранных в ЦСБС в первой декаде октября.

Растительные образцы мискантуса измельчали ножницами. Массовую долю целлюлозы определяли методом Кюршнера (в пересчете на абсолютно сухое сырье – а.с.с.), массовую долю кислотонерастворимого лигнина (а.с.с.), массовую долю пентозанов (а.с.с.), зольность (а.с.с.), массовую долю экстрактивных веществ (жировосковой фракции – ЖВФ; экстрагент – дихлорметан, а.с.с.) – по стандартным методикам анализа растительного сырья (Оболенская и др., 1991).

Экстракцию геномной ДНК выполняли из навесок сухого растительного материала (листьев) с использованием СТАВ-метода, разработанного J.J. Doyle, J.L. Doyle (1990). Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически с помощью BioSpectrometer Kinetic и микрокуветы μ Cuvette G1.0 (Eppendorf, Германия).

Для амплификации внутреннего транскрибируемого спейсерного участка ITS1-2 ядерной рибосомальной ДНК применялись праймеры ITS4 и ITS5 и протокол ПЦР, рекомендованный (White et al., 1990). Для амплификации

межгенного спейсера *trnL*-F хлоропластной ДНК использованы универсальные праймеры “с” и “f” (Taberlet et al., 2007) и применен протокол проведения ПЦР, предложенный в (Amirahmadi et al., 2010). Амплификация локусов ДНК выполнена на амплификаторе Thermal Cycler C1000 (Bio-Rad, США). Анализ длины амплифицированных фрагментов проводился путем электрофоретического разделения в агарозном геле (1.5 %) в камерах Sub Cell Model 96 под действием электрического тока (4 В/см). Амплифицированные фрагменты окрашивались SYBR-Green (Thermo Fischer Scientific, США). Визуализацию и видеофиксацию разделенных ПЦР-фрагментов осуществляли с помощью системы гель-документирования Gel-Doc XR+ и программного обеспечения ImageLab Software Imaging System (Bio-Rad).

Полученные индивидуальные ДНК-фрагменты спейсерного участка ITS1-2 и межгенного участка *trnL*-F очищали от компонентов ПЦР сорбцией на магнитных частицах AMPureXP (Agencourt, США) и секвенировали напрямую с использованием набора BigDye Ready Reaction DNA Sequencing Kit v.3.1 (Thermo Scientific, США). Продукты реакции Сэнгера очищали от невключившихся флуоресцентных красителей центрифугированием (900 g, 2 мин) через колонку с 750 мкл суспензии Sephadex G-50 Fine (GE Healthcare, США) и анализировали на автоматических генных анализаторах 3130XL (Applied Biosystems, США) в Центре коллективного пользования «Геномика» (Новосибирск). Полученные секвенограммы использовали для маркирования видов рода *Miscanthus*: *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* и *M. purpurascens*. Сравнение проводили по парам нуклеотидных оснований (п. н. о.).

С помощью программы MEGA 7.0.25 (Kumar et al., 2016) нуклеотидные последовательности были выровнены методом Clustal-W, рассчитаны *p*-расстояния, определено содержание GC-нуклеотидов; методом Maximum Parsimony сконструирована схема генетических взаимоотношений проанализированных образцов.

Результаты

Особенности морфологии и феноритмов мискантусов в условиях лесостепи Западной Сибири

Для изучения особенностей феноритмики трех видов мискантусов были проанализированы гидротермические особенности вегетационных периодов различных районов (табл. 1): 1) зона естественных местообитаний (г. Владивосток, тип климата муссонный); 2) регион, где известен успешный многолетний опыт получения сырья мискантуса на производственных площадях (г. Пенза, тип климата умеренно континентальный); 3) экспериментальные участки в зоне рискованного земледелия (г. Новосибирск, тип климата континентальный).

Как видно из табл. 1, более благоприятен при отращивании и весеннем развитии тепловой режим в условиях Пензы и даже Новосибирска (май), по сравнению с естественными местообитаниями. В конце сентября–октябре это преимущество перед условиями естественных местообитаний нивелируется. Именно накопление тепла в осенние месяцы в Приморском крае способствует полноценному генеративному развитию и получению семян.

Таблица 1. Гидротермические особенности периодов вегетации в географических пунктах выращивания мискантуса, представленных тремя типами климата

Показатель	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	Ноябрь
Новосибирск, континентальный тип климата								
Средний максимум, °С	7.8	18.4	22.9	25.0	22.4	15.6	7.2	-3.7
Средняя температура, °С	2.3	11.7	16.8	19.2	16.5	10.1	2.9	-7.1
Средний минимум, °С	-2.0	6.0	11.4	14.1	11.5	5.9	-0.3	-10.0
Норма осадков, мм	28	34	50	72	49	42	46	38
Пенза, умеренно континентальный тип климата								
Средний максимум, °С	12.1	20.7	24.5	26.4	24.6	18.1	9.7	0.6
Средняя температура, °С	6.5	13.9	18.0	19.9	17.9	12.1	5.4	-2.3
Средний минимум, °С	1.5	7.5	12.0	13.8	12.0	7.2	1.9	-4.7
Норма осадков, мм	33	41	63	59	50	52	46	45
Владивосток, муссонный тип климата								
Средний максимум, °С	9.4	14.7	18.1	21.9	24.1	20.2	13.4	3.3
Средняя температура, °С	4.9	9.8	14.0	18.3	20.8	16.4	9.4	-0.3
Средний минимум, °С	1.9	6.7	11.4	16.2	18.5	13.5	6.4	-3.1
Норма осадков, мм	62	95	89	164	145	92	59	41

Таблица 2. Гидротермические особенности зимних периодов в географических пунктах выращивания мискантуса, представленных тремя типами климата

Показатель	Декабрь	Январь	Февраль	Март
Новосибирск, континентальный тип климата				
Средний максимум, °С	-10.1	-12.2	-9.8	-2.1
Средняя температура, °С	-13.9	-16.1	-14.3	-7.0
Средний минимум, °С	-17.5	-19.6	-17.9	-11.1
Норма осадков, мм	31	26	15	17
Пенза, умеренно континентальный тип климата				
Средний максимум, °С	-4.4	-5.5	-5.1	1.0
Средняя температура, °С	-7.4	-8.7	-9.1	-3.4
Средний минимум, °С	-10.3	-11.9	-12.5	-7.2
Норма осадков, мм	41	38	31	35
Владивосток, муссонный тип климата				
Средний максимум, °С	-6.0	-8.2	-4.1	2.1
Средняя температура, °С	-9.9	-12.2	-8.5	-1.9
Средний минимум, °С	-12.6	-15.3	-11.3	-4.7
Норма осадков, мм	26	10	25	35

При сравнении температурных показателей и количества твердых осадков, выпадающих в Новосибирске, Пензе и Владивостоке в зимний период, было выявлено, что, в отличие от более теплых условий вегетации во Владивостоке по сравнению с Пензой в сентябре–октябре, зимний температурный режим в естественных местообитаниях в декабре–январе гораздо более суровый (табл. 2). По срав-

нению с Новосибирском во Владивостоке в зимние месяцы выпадает гораздо меньше снега, однако это не вызывает повреждений зимующих почек возобновления *in situ*. Таким образом, 100 % зимостойкость представителей рода *Miscanthus* в Новосибирске во многом объясняется исторически сложившимися и генетически закрепленными адаптационными возможностями дальневосточных веерников.

Изучение сезонного развития вводимых в культуру растений позволяет сделать наиболее достоверные заключения о перспективности или, напротив, недостаточной устойчивости видов и сортов только в том случае, если многолетний период изучения включал засушливые или характеризующиеся значительным количеством осадков вегетационные периоды, а также экстремальные зимовки. В течение шестилетних наблюдений в условиях лесостепи Западной Сибири за *M. sacchariflorus*, *M. sinensis*, *M. purpurascens* отмечалось следующее:

- вегетационный период 2012 г. был аномально засушливый и жаркий, в июне осадков выпало 38 %, а в июле – лишь 6 % от нормы; среднемесячная температура воздуха в июне превышала среднееголетний показатель на 4.7 °С, в июле – на 3.1 °С;
- вегетационный период 2013 г. оказался избыточно увлажненным, выпадение осадков превышало среднееголетние показатели начиная с июля (115 %), в августе составило 284 % от нормы (171 мм), а в сентябре – 135 %;
- начало зимовки 2013 г. (ноябрь) было относительно мягким, особенно с учетом почти двукратного превышения осадков, выпавших в виде снега;
- к экстремальным можно отнести начало зимовки 2016–2017 г., когда в ноябре 2016 г. в течение всей второй декады минимальные температуры воздуха были ниже -20 °С, а на протяжении шести дней опускались даже до

Таблица 3. Морфометрические параметры вегетативных органов веерников в лесостепи Западной Сибири (*ex situ*)

Длина генеративного побега, см		Число листьев, шт.		Ширина листа*, см		Длина листа*, см		Диаметр соломины, см	
$X \pm s_x$	V, %	$X \pm s_x$	V, %	$X \pm s_x$	V, %	$X \pm s_x$	V, %	$X \pm s_x$	V, %
<i>M. purpurascens</i>									
163.1 ± 4.3	13.1	10.5 ± 0.1	5.6	1.5 ± 0.1	13.4	57.2 ± 1.1	9.6	0.47 ± 0.02	21.80
<i>M. sinensis</i>									
213.0 ± 7.2	13.2	11.3 ± 0.2	6.4	2.1 ± 0.1	16.3	66.4 ± 1.8	10.3	0.51 ± 0.02	16.24
<i>M. sacchariflorus</i>									
220.7 ± 0.3	12.5	11.4 ± 0.2	7.1	2.1 ± 0.1	16.9	67.5 ± 2.2	10.9	0.51 ± 0.03	16.33

* Четвертый сверху лист.

–25 °С при небольшом превышении среднеголетних показателей выпадения твердых осадков;
– наиболее суровой (в первую очередь для фанерофитов, а не гемикриптофитов, к которым относятся изучаемые веерники) была зимовка 2012–2013 г.: в декабре 24 дня характеризовались минимальной температурой воздуха ниже –25 °С, из них 10 дней были наиболее холодными (от –30.0 до –41.5 °С).

Однако суровые температурные условия существенно не отразились на зимостойкости *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* и *M. purpurascens*.

Было выявлено, что во все годы наблюдений растения трех видов мискантуса проходили одинаковый набор фенофаз вегетативного и генеративного развития (отрастание, трубкование, колошение, цветение). Исключение составил 2013 г., когда фазы колошения и цветения не происходили. Мы объясняем это не столько избыточным выпадением осадков, приводящим к бурному вегетативному развитию веерников по аналогии с муссонным климатом Дальнего Востока, сколько более низкими температурами воздуха, отмечавшимися в этот же период в Новосибирске. Недобор тепла, вероятно, замедлил внутривидовую дифференциацию генеративных органов настолько, что растения не успели достичь даже фазы колошения до наступления первых осенних заморозков.

M. sacchariflorus стабильно отличался более ранним (на 5–10 дней) отрастанием по сравнению с *M. sinensis* и *M. purpurascens*. Подобное опережение сохранялось и при наступлении остальных фенофаз. Следует отметить, что в естественных местообитаниях Приморского края данный вид занимает наиболее северные районы (например, Сихотэ-Алинь).

Самое раннее вступление в генеративные фазы у всех трех видов наблюдалось в 2014 г., который характеризовался ранним весенним потеплением и, соответственно, более ранним оттаиванием почвы.

В большинстве литературных источников (Greef et al., 1997; Nishiwaki et al., 2011; Gifford et al., 2015), посвященных различным аспектам изучения и практического применения видов, форм, гибридов и сортов веерников, отмечается, что в рамках данного коллекционного генофонда требуются серьезные систематические уточнения.

Таксономическая принадлежность сосудистых растений традиционно определяется в значительной мере по количественным и качественным характеристикам генеративных органов и надземных вегетативных. Однако в

случае с видами мискантуса следует придавать значение и строению подземных органов. Так, при изучении биоморфологии *M. sacchariflorus* в ЦСБС было выявлено, что жизненная форма данного вида в условиях лесостепного Приобья совпадает с описанием жизненной формы данного вида, сделанным А.Б. и Т.А. Безделевыми (Безделев, Безделева, 2006) для условий Приморья, – многолетний летнезеленый травянистый тонко-длиннокорневищный симподиально нарастающий поликарпик с удлинненным прямостоячим побегом.

Для *M. sinensis* этими авторами описаны две биоморфы. Однако, на наш взгляд, жизненная форма «многолетний летнезеленый травянистый толсто-длиннокорневищный рыхло-дерновинный симподиально нарастающий поликарпик с полурозеточным прямостоячим побегом» в большей мере относится к *M. purpurascens*, а «многолетний летнезеленый травянистый короткокорневищный рыхло-дерновинный симподиально нарастающий поликарпик с полурозеточным прямостоячим побегом» – к *M. sinensis*, для которого в наших условиях была характерна партикуляция.

Динамику побегообразования и морфометрические параметры в культуре сравнивали с развитием побегов *M. × giganteus* в условиях умеренно континентального климата (Пенза). Считается, что одной из родительских форм мискантуса гигантского является мискантус китайский (табл. 3).

Согласно данным табл. 3, длина генеративных побегов трех видов мискантуса варьирует в пределах 163–220 см. В условиях Пензы диапазон длины генеративных побегов мискантуса гигантского составил 160–207 см (Гущина и др., 2016). По этому параметру, равно как и по ширине листьев, изученные в Новосибирске (ЦСБС) и Пензе виды близки.

Следует отметить, что характеристики стеблей и листьев имеют особое значение при использовании веерников как технической культуры. Поскольку исследования проводились в рамках Интеграционного проекта СО РАН «Фундаментальные основы получения этилена из мискантуса» (http://www.sbras.ru/files/files/pril_pso-230_15-08-17.pdf), то особое внимание было уделено получению сырья и дальнейшему анализу его химического состава на предмет содержания целлюлозы, а также лигнина, пентозанов, золы и жировосковой фракции (табл. 4).

Как оказалось, *M. sinensis* и *M. purpurascens* близки не только по районам местообитаний и морфологическим

Таблица 4. Химический состав образцов мискантуса ($X \pm s_x$, %), интродуцированных в ЦСБС СО РАН, г. Новосибирск

Вид	Целлюлоза по Кюршнеру*	Лигнин*	Пентозаны*	Зола*	ЖВФ
<i>M. purpurascens</i>	48.4 ± 1.0	23.1 ± 0.5	21.7 ± 0.5	4.36 ± 0.05	2.2 ± 0.5
<i>M. sinensis</i>	49.1 ± 1.0	23.3 ± 0.5	20.7 ± 0.5	3.00 ± 0.05	2.6 ± 0.5
<i>M. sacchariflorus</i>	53.3 ± 1.0	28.1 ± 0.5	21.3 ± 0.5	5.66 ± 0.05	2.4 ± 0.5

Примечание. ЖВФ – жировосковая фракция. * В пересчете на а.с.с.

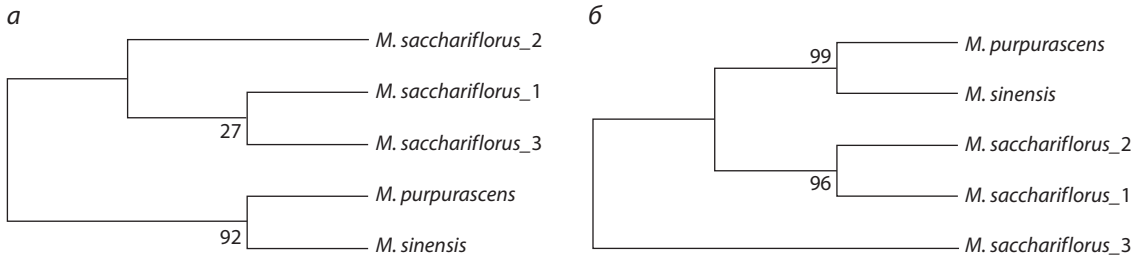


Схема генетических взаимоотношений трех представителей рода *Miscanthus*, построенная методом Maximum Parsimony на основе данных секвенирования регионов ITS1-2 (а) и *trnL-F* (б).

В узлах ветвей приведены значения бутстреп-поддержки.

признакам, но и по химическому составу. *M. sacchariflorus* показал более высокие значения и целлюлозы, и лигнина. Повышенное содержание лигнина может быть связано с очень большим содержанием золы (6 %). На производственных площадях одной из причин этого является повышенное содержание кислотонерастворимых солей в почве, что может быть обусловлено избыточным внесением минеральных удобрений с целью получить максимальный урожай. Однако перерабатывать такую биомассу в целлюлозу гораздо труднее. Примечательно, что в условиях ЦСБС все три вида мискантуса выращивались на выровненном агрофоне.

Генетическое маркирование видов мискантуса

Для выявления генетического полиморфизма и проведения ДНК-маркирования видов мискантуса были изучены вариабельность длины и нуклеотидного состава последовательностей локуса ITS1-2 ярдНК и межгенного спейсера *trnL-F* хлДНК у трех видов: *M. sacchariflorus*, *M. sinensis* и *M. purpurascens*.

На основании анализа внутреннего транскрибируемого спейсерного участка ITS1-2 ядерной рибосомальной ДНК мискантусов выявлена вариабельность длины этого региона, представленного 440 п. н. о. у *M. purpurascens*, 486 п. н. о. у *M. sinensis* и 656–671 п. н. о. у *M. sacchariflorus*. Длина межспейсерного участка *trnL-F* хлДНК у мискантусов варьировала в меньших пределах: от 893 (*M. sinensis*) до 962 п. н. о. (*M. sacchariflorus_2*). Полученные *trnL-F*-последовательности отличаются низким содержанием нуклеотидов G и C (в среднем 31.4 % для локуса), в то время как для локуса ITS выявлена средняя доля GC-нуклеотидов в размере 61 %. ITS-последовательности характеризуются наличием полигуаниновых фрагментов; последовательности локуса *trnL-F* – присутствием большого числа поли-A и поли-T-блоков.

По данным секвенирования локусов ядерной (ITS) и хлоропластной ДНК (*trnL-F*) были построены схемы

(см. рисунок), отражающие генетический полиморфизм и родственные связи между представителями рода *Miscanthus*.

На обеих схемах достоверно (величина бутстреп-поддержки более 90 %) отражены тесные взаимоотношения между *M. sinensis* и *M. purpurascens*. На основании анализа разных маркерных локусов выявлены две различные модели кластеризации образцов *M. sacchariflorus*. Так, по данным секвенирования ITS-региона все три образца формируют одну общую кладу (см. рисунок, а). В то же время по данным анализа локуса *trnL-F* образец *M. sacchariflorus_3* и два образца *M. sacchariflorus_1* и *M. sacchariflorus_2* формируют две отдельные клады (см. рисунок, б).

Обсуждение

Гидротермические условия всех вегетационных периодов 2012–2017 гг., в течение которых проводилось изучение сезонного развития трех отборных форм веерников (по одной от *M. sacchariflorus*, *M. purpurascens* и *M. sinensis*), благоприятствовали получению вегетативной массы растительного сырья, т. е. использованию в качестве технической культуры. При оценке объектов в качестве декоративных злаков было отмечено, что только в избыточно увлажненный вегетационный период 2013 г. все образцы не вступили в генеративную фазу. Колошение и цветение (формирование эффектных метелок, которые сохраняют декоративность даже в зимний период, выступая над снеговым покровом) не наблюдались.

Морфометрические параметры вегетативных (технологически значимых) органов веерников в лесостепи Западной Сибири не уступали аналогичным показателям в условиях умеренно континентального климата, варьировали на низком и среднем уровне, что позволяет достаточно точно спрогнозировать урожай (сырьевой запас).

Одним из основных морфологических отличий *M. sacchariflorus* (занимающего более северные местообитания,

относящиеся не только к муссонному, но и к умеренно континентальному климату) является строение подземных органов, а именно тонко-длиннокорневищная биоморфа. Феноритмотипы и жизненные формы *M. sacchariflorus* и *M. sinensis* соответствуют таковым в естественных условиях Приморского края. Это свидетельствует о их достаточно высоких адаптивных возможностях, а с учетом внутривидового полиморфизма – о перспективности отборов наиболее технологически (в том числе биохимически) продуктивных форм.

Проанализировав генетические взаимоотношения представителей рода *Miscanthus*, основанные на данных секвенирования локусов *ITS1-2* и *trnL-F*, можно заключить, что в целом полученные результаты вполне согласуются между собой. Различный характер ветвления полученных филогенетических деревьев может быть обусловлен разным типом наследования, бипарентальным и унипарентальным, характерным для ядерных и хлоропластных маркеров соответственно, которые были выбраны для построения деревьев.

Выявленные молекулярные признаки разных видов мискантуса могут быть использованы для идентификации и паспортизации форм и линий, перспективных для получения экономически доступного растительного сырья, пригодного для использования в качестве экологически безопасного альтернативного варианта биотоплива.

Благодарности

Исследования выполнены по комплексной программе фундаментальных научных исследований СО РАН II.1. Блок проекта «Исследование морфогенетического потенциала рода веерник (*Miscanthus* Anderss.) и возможности его использования в интродукции и селекции в условиях Западной Сибири» (номер государственной регистрации АААА-А17-117120640059-4) и с использованием материалов биоресурсной научной «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» USU 440534.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

Анисимов А.А., Хохлов Н.Ф., Тараканов И.Г. Особенности фото-периодической регуляции онтогенеза у различных видов мискантуса (*Miscanthus* spp.). Изв. ТСХА. 2016;(6):56-72. [Anisimov A.A., Hohlov N.F., Tarakanov I.G. Photoperiodic regulation of development in various *Miscanthus* species (*Miscanthus* spp.). Izvestiya Timiryazevskoy Selskokhozyaystvennoy Akademii = Izvestiya of the Timiryazev Agricultural Academy. 2016;(6):56-72. (in Russian)]

Бездедев А.Б., Безделева Т.А. Жизненные формы семенных растений российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2006. [Bezdelev A.B., Bezdeleva T.A. Life Forms of Seed Plants of the Russian Far East. Vladivostok: Dalnauka Publ., 2006. (in Russian)]

Ворошилов В.Н. Определитель растений советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1982. [Voroshilov V.N. Field guide to Soviet Far East plants. Moscow: Nauka, 1982. (in Russian)]

Гушина В.А., Агапкин Н.Д., Борисова Е.Н. Адаптация мискантуса гигантского первого года жизни к условиям среднего Поволжья. Проблемы и мониторинг природных экосистем: Сб. статей III Междунар. науч.-практ. конф. 2016;14-18. [Guschina V.A., Agapkin N.D., Borisova E.N. Adaptation of giant miscanthus first

year of life to the conditions of the middle Volga region. Proceedings of the 3rd International Scientific and Practical Conference "Problems and Monitoring of Natural Ecosystems". 2016;14-18. (in Russian)]

Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР: Совет ботан. садов СССР. М., 1975;18-27. [Methodology of Phenological Observations in botanical gardens of the USSR: Board of botan. gardens of the USSR. Moscow, 1975;18-27. (in Russian)]

Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М., 1991. [Obolenskaya A.V., Elnitskaya Z.P., Leonovich A.A. Laboratory Course on the Chemistry of Wood and Cellulose. Moscow, 1991. (in Russian)]

Ревин П. Речь на XVI Международном ботаническом конгрессе. Информ. бюл. Совета ботан. садов России и Отд-ния Междунар. совета по охране растений. 2000;11:38-47. [Revin P. Speech at the XVIth International Botanical Congress. Bulletin of the Board of botanic gardens of Russia and the branch of the Botanic Gardens Conservation International. 2000;11:38-47. (in Russian)]

Слынько Н.М., Горячковская Т.Н., Шеховцов С.В., Банникова С.В., Бурмакина Н.В., Старостин К.В., Розанов А.С., Нечипоренко Н.Н., Вепрев С.Г., Шумный В.К., Колчанов Н.А., Пельтек С.Е. Биотехнологический потенциал новой технической культуры – мискантус сорт Сорановский. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013;17(4/1):765-771. [Slynyko N.M., Goryachkovskaya T.N., Shekhovtsov S.V., Bannikova S.V., Burmakina N.V., Starostin K.V., Rozanov A.S., Nechiporenko N.N., Veprev S.G., Shumny V.K., Kolchanov N.A., Peltek S.E. The biotechnological potential of the new crops, *Miscanthus* cv. Soranovsky. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2013;17(4/1):765-771. (in Russian)]

Amirahmadi S., Kazempour Osaloo S., Maassoumi A.A. Loss of chloroplast *trnL*_{UAA} intron in two species of *Hedysarum* (Fabaceae): evolutionary implications. Iran. J. Biotechnol. 2010;8(3):150-155.

Dohleman F.G., Long S.P. More productive than maize in the midwest: how does *Miscanthus* do it? Plant. Physiol. 2009;150(4):2104-2115. DOI 10.1104/pp.109.139162.

Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 1990;12:13-15.

Gifford J.M., Chae W.B., Juvik J.A., Swaminathan K., Moose S.P. Mapping the genome of *Miscanthus sinensis* for QTL associated with biomass productivity. GCB Bioenergy. 2015;7(4):797-810. DOI 10.1111/gcbb.12201.

Greef J.M., Deuter M., Jung C., Schondelmaier J. Genetic diversity of European *Miscanthus* species revealed by AFLP fingerprinting. Genet. Resour. Crop Evol. 1997;44(2):185-195. DOI 10.1023/A:1008693214629.

Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Mol. Biol. Evol. 2016;33(7):1870-1874. DOI 10.1093/molbev/msw054.

Naidu S.L., Moose S.P., Al-Shoabi A.K., Raines C.A., Long S.P. Cold tolerance of C₄ photosynthesis in *Miscanthus × giganteus*: adaptation in amounts and sequence of C₄ photosynthetic enzymes. Plant Physiol. 2003;132:1688-1697. DOI 10.1104/pp.103.021790.

Nishiwaki A., Mizuguti A., Kuwabara S., Toma Y., Ishigaki G., Miyashita T., Yamada T., Matuura H., Yamaguchi S., Rayburn A.L., Akashi R., Stewart J.R. Discovery of natural *Miscanthus* (Poaceae) triploid plants in sympatric populations of *Miscanthus sacchariflorus* and *Miscanthus sinensis* in southern Japan. Am. J. Bot. 2011; 98(1):154-159. DOI 10.3732/ajb.1000258.

Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Gielly L., Miquel C., Valentini A., Vermat T., Corthier G., Brochmann C., Willerslev E. Power and limitation of the chloroplast *trnL* (UAA) intron for plant DNA-barcoding. Nucleic Acids Res. 2007;35(3):e14. DOI 10.1093/nar/gkl1938.

White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. 1990;18(1):315-322. DOI 10.1016/b978-0-12-372180-8.50042-1.